

⑫ 公開特許公報 (A)

昭56—28208

⑤ Int. Cl.³
C 08 F 212/08
G 01 N 33/54
// (C 08 F 212/08
220/26)

識別記号

庁内整理番号
7919—4 J
6656—2 G
7133—4 J

⑬ 公開 昭和56年(1981)3月19日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭ 診断試薬用ラテックスの製造方法

高槻市城南町2丁目2番22号

⑯ 出 願 人 積水化学工業株式会社
大阪市北区西天満2丁目4番4号

⑰ 特 願 昭54—104625

⑱ 出 願 昭54(1979)8月16日

⑲ 発 明 者 山田都一

明 細 書

発明の名称

診断試薬用ラテックスの製造方法

特許請求の範囲

1 スチレンと一般式が

$$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_x(CHCH_2O)_y(CH_2CH_2O)_zR_2 \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

(ここに R_1 は H 又は CH_3 ; R_2 は H 又は CH_3 ; x , y , z はそれぞれ 0 又は 100 以下の整数であつて、 x , y , z の間には次の関係が成り立つ。 $1 \leq x + y + z \leq 100$)で表わされる化合物とを、乳化剤の不存在下で水溶性ラジカル重合開始剤を用いて水中で共重合させてラテックスとなすことを特徴とする診断試薬用ラテックスの製造方法。

2 水溶性ラジカル重合開始剤が過硫酸塩である特許請求の範囲第1項記載の製造方法。

発明の詳細な説明

本発明は免疫血清学的診断試薬に用いられるラテックスの製造方法に関するものである。

ポリスチレンラテックスに抗原又は抗体を添作させ、これを用いて血清中の対応する抗体又は抗原をラテックスの凝集反応として検出する免疫血清学的診断法は、その簡便性と迅速性の故に臨床検査の分野において多くの種類の抗原又は抗体の検出に拡大適用され今日に至っている。この目的に用いられるポリスチレンラテックスは、一般に粒径が0.05ないし1ミクロンであり、粒径分布が狭く粒径の揃つたものが望ましい。このようなラテックスは通常公知の乳化重合の方法を用いて製造できるとされている。その方法とは、例えば水中にアニオン系、ノニオン系又はカチオン系の乳化剤の何れか1種又は2種以上を混合したもの、スチレンモノマー及び水溶性ラジカル重合開始剤等を共存させて、好ましくは酸素を除いた雰囲気、適当な温度に適當な時間保持することである。このようにして得られるポリスチレンラテックスにおいては、その安定性に寄与する乳化剤の存在形態は重要である。一般には、重合の際に

用いた乳化剤の一部はポリスチレンラテックス粒子の表面に吸着されており、他はラテックス中に遊離の状態で存在しており、これらの状態の間には乳化剤のポリスチレンラテックス粒子表面に対する吸着脱着平衡が成立している。このように通常の方法で製造されるポリスチレンラテックスにあつては、乳化剤は安定なラテックスの形成に不可欠である。しかしながら、遊離の乳化剤は前述の抗原又は抗体によるラテックスの凝集反応に対しては不適合な影響を与えるのである。すなわち免疫血清学的診断試薬を製造するには、まず前述の如くポリスチレンラテックスに抗原又は抗体を感作させる必要があるが、遊離の乳化剤を含むラテックスを用いるとこの段階ですでに凝集してしまうことがある。次に、抗原又は抗体を感作させたラテックスを用いて、この抗原又は抗体に対応する抗体又は抗原をラテックスの凝集反応によつて検出する際には、検出されるべき抗体又は抗原を含む血清（陽性血清）と接触すれば感作ラテックスは

-3-

凝集し、かかる抗体又は抗原を含まない血清（陰性血清）と接触しても感作ラテックスは凝集しないことが必須条件とされるのであるが、遊離の乳化剤を含む感作ラテックスの場合には陰性血清と接触しても凝集してしまい、いわゆる非特異的凝集反応となることがはなはだ多いのである。

勿論、ラテックスに含まれる遊離の乳化剤は、例えばイオン交換法や透析法の技術を用いて除くことは可能である。しかし、遊離の乳化剤をラテックスから除いてしまった場合、前述の如く遊離の乳化剤とラテックス粒子表面に吸着された乳化剤との間の吸着脱着平衡の成立によつてラテックスが安定化されているために、ラテックスの安定性は極端にわるくなり実際上は使用不可能となつてしまうのである。

以上の如く、免疫血清学的診断試薬用ラテックスとしては、通常の乳化混合法で製造したポリスチレンラテックスは、遊離の乳化剤を含む点において実用上大きな難点を有しているのでは

-4-

る。

本発明は上記の如き欠点のない免疫血清学的診断試薬として用いられるラテックスを提供することを目的として鋭意研究せる結果なされたものであり、その要旨はスチレンと一般式が

$$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_x(CHCH_2O)_y(CH_2CH_2O)_zR_2 \end{array}$$

(ここに R_1 は H 又は CH_3 ; R_2 は H 又は CH_3 ; x , y , z はそれぞれ 0 又は 100 以下の整数であつて、 x , y , z の間には次の関係が成り立つ。 $1 \leq x + y + z \leq 100$) で表わされる化合物とを、乳化剤の不存下で水溶性ラジカル重合開始剤を用いて水中で共重合させてラテックスとなすことを特徴とする診断試薬用ラテックスの製造方法に存する。

本発明に用いられるスチレンと共重合させる化合物即ち

$$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_x(CHCH_2O)_y(CH_2CH_2O)_zR_2 \end{array}$$

(ここに R_1 は H 又は CH_3 ; R_2 は H 又は CH_3 ; x ,

-5-

y , z はそれぞれ 0 又は 100 以下の整数であつて、 x , y , z の間には次の関係が成り立つ。 $1 \leq x + y + z \leq 100$) としては、

ポリエチレンオキシドのアクリル酸又はメタアクリル酸エステル、
ポリプロピレンオキシドのアクリル酸又はメタアクリル酸エステル、
エチレンオキシドとプロピレンオキシドとのブロック共重合体のアクリル酸又はメタクリル酸エステル等

があげられ、具体的には

$$\begin{array}{c} H \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_nH \\ \\ H \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_nH \\ \\ H \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_nH \\ \\ H \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_nCH_3 \\ \\ H \\ | \\ CH_2 = C - COO(CH_2CH_2O)_nCH_3 \end{array}$$

-6-

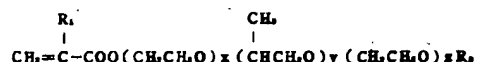


-7-

得られない。

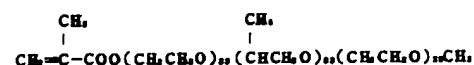
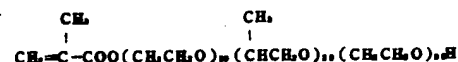
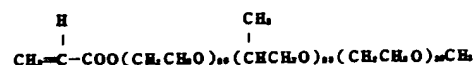
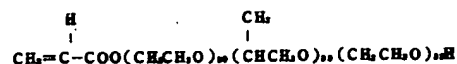
又、本発明における水溶性ラジカル重合開始剤としては、過硫酸カリウム、過硫酸アンモニウム、過硫酸ナトリウム等の過硫酸塩、2-2アゾビス(2-アミジノプロパン)酸塩、アゾビスシアノブアレリン酸及びそのアルカリ金属塩及びアンモニウム塩等のアゾ化合物、酒石酸-過酸化物、ロンガリット-過酸化物、アスコルビン酸-過酸化物等のレッドファクス系開始剤等があげられ、過硫酸塩が好適に用いられる。

これらの重合開始剤のモノマー全体に対する割合は0.01ないし1重量%の範囲が好ましい。本発明方法によりラテックス製造のための共重合を行うには本が仕込まれた反応器内にスチレンに一般式



で表わされる化合物の少くとも何れか1種類および開始剤を加えて攪拌しながら加熱すればよく、その際の重合反応温度は通常50ないし1

-9-



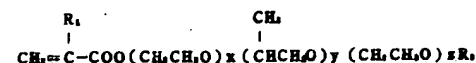
などが好適な例としてあげられる。これらの化合物はスチレンとの共重合成分であると同時に、通常公知の乳化重合法における乳化剤の機能をも果たすものであり、スチレンに対する使用割合は0.1ないし70重量%であるが、好ましくは1ないし50重量%、より好ましくは3ないし30重量%である。前述のx, y, zの関係式においてx+y+z>100の場合は、スチレンとこれらの化合物との共重合性が低下して、¹ラテックス安定してしかも粒径がよく揃ったラテックスが¹字加入

-8-

0.0で、好ましくは60ないし85%の範囲とするのがよい。又、重合反応に要する時間はモノマー組成、モノマー濃度、開始剤濃度等の条件により変わるが通常5ないし50時間の範囲である。

かくして本発明の方法により平均粒径が0.05ないし2ミクロンで、粒径のばらつきが変動係数(粒径の標準偏差/平均粒径)で表わして0.05以下である粒径が非常によく揃った単分散ラテックスを得ることができる。

本発明の診断試薬用ラテックスの製造方法は上述の通りの構成であるので、一般式が



で表わされる化合物は、スチレンとの共重合成分であると同時に通常公知の乳化重合法における乳化剤の機能をも果たし、極めて安定にしてしかも粒径がよく揃ったラテックスを製造することが出来るのであり、そして該ラテックスは従来法により得られたラテックスの様に乳化

-10-

別が遊離の状態で存在していることがないので、免疫血清学的診断試薬としていわゆる非特異的凝集反応を起こすことがなくすぐれた性能を有するものである。

次に本発明の実施例について説明する。

実施例 1

スチレンモノマー 65 g、化学式

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_2=\text{C}-\text{COO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{10}\text{CH}_2 \end{array}$$
 で表わされる化合物 45 g、過硫酸カリウム 0.05 g、イオン交換水 450 g を反応容器に仕込み、容器を窒素ガスで置換し反応温度 70℃ で 30 時間共重合した。このようにして得られたラテックスの平均粒径は 0.59 ミクロン、粒径のばら付きは変動係数で表わして 0.05 であった。

pH 8.5 のグリシン緩衝液に分散したラテックス分散液 1 容に対し、グリシン緩衝液で 0.1% に希釈したヒトガンマグロブリン溶液 1 容を混合し、30℃ に 15 分保つた後、25000×G で遠心分離して未吸着のヒトガンマグロブリン

-11-

4 であった。このラテックスを用いて実施例 1 と全く同じ方法で免疫血清学的診断試薬を調製し、リウマチ因子を含む血清による凝集反応の強さを観察し、第 1 表の結果を得た。

また、リウマチ因子を含まない血清を用いて実施例 1 と全く同じ試験をした場合、凝集は全く観察されなかった。

実施例 2

スチレンモノマー 65 g、化学式

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_2=\text{C}-\text{COO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{10}(\text{CHCH}_2\text{O})_{10}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{10}\text{H} \end{array}$$
 で表わされる化合物 20 g、過硫酸カリウム 0.05 g、イオン交換水 450 g を反応容器に仕込み容器を窒素ガスで置換し反応温度 60℃ で 40 時間共重合した。このようにして得られたラテックスの平均粒径は 0.63 ミクロン、粒径の変動係数は 0.05 であった。このラテックスを用いて実施例 1 と全く同じ方法で免疫血清学的診断試薬を調製し、リウマチ因子を含む血清による凝集反応の強さを観察し、第 1 表の結果を

-12-

を除き、沈降したラテックス粒子をグリシン緩衝液に再分散して均一なラテックス分散液とした。この 1 滴とグリシン緩衝液で種々の比率に希釈したリウマチ因子を含む血清 1 滴とをガラス板上で混合し、3 分間ガラス板をゆるやかに前後左右に傾けて凝集反応の強さを観察し第 1 表の結果を得た。

また、リウマチ因子を含む血清のかわりにグリシン緩衝液で 20 倍に希釈したリウマチ因子を含まない正常な血清を用いて同じ試験をした場合、凝集は全く観察されなかった。

実施例 3

スチレンモノマー 65 g、化学式

$$\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{CH}_3 \\ | \quad \quad | \\ \text{CH}_2=\text{C}-\text{COO}(\text{CHCH}_2\text{O})_{10}\text{H} \end{array}$$
 で表わされる化合物 10 g、過硫酸カリウム 0.05 g、イオン交換水 450 g を反応容器に仕込み、容器を窒素ガスで置換し反応温度 80℃ で 20 時間共重合した。このようにして得られたラテックスの平均粒径は 0.65 ミクロン、粒径の変動係数は 0.0

-13-

得また、リウマチ因子を含まない血清を用いて実施例 1 と全く同じ試験をした場合、凝集は全く観察されなかった。

これら実施例 1 乃至 3 の結果から明らかなように、本発明の方法によつて得られたラテックスを用いて調製した免疫血清学的診断試薬は感度が高く、かつ非特異的な凝集反応を起こさないものである。

比較例

スチレンモノマー 91 g、ノニオン乳化剤（第一工業製薬社製、商品名エマルジブト 49）2 g、過硫酸カリウム 0.3 g、イオン交換水 440 g を反応容器に仕込み、容器を窒素ガスで置換し反応温度 70℃ で 24 時間重合した。得られたラテックスの平均粒径は 0.48 ミクロン、粒径の変動係数は 0.15 であった。

このラテックスを用いて実施例 1 と全く同じ方法で免疫血清学的診断試薬を調製し、リウマチ因子を含む血清による凝集反応の強さを観察し、

-14-

第1表の結果を得た。

また、リウマチ因子を含まない血清を用いて実施例と全く同じ試験をした場合前述の実施例1乃至3とは異なり、明らかな凝集がみとめられた。

第 1 表

血清希釈倍率		20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
凝集の強さ	実施例 1	++	+	+	+	±	-	-	-	-
	実施例 2	++	++	+	+	+	±	-	-	-
	実施例 3	++	+	+	±	-	-	-	-	-
	比較例	++	+	±	-	+	+	-	-	-

++ : 3 分以内に起こる極めて強い凝集

++ : 3 分以内に起こる明らかな凝集

± : 10 分以内に起こる明らかな凝集

- : 30 分以後も凝集せず

特許出願人

積水化学工業株式会社

代表者 藤 田 基 利